

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human Epithelial Membrane Antigen**  
Clone E29

**Code M0613**

**ENGLISH**

<b>Intended use</b>	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, Clone E29, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels epithelial cells in a wide variety of tissues and is a useful aid for the classification of neoplastic epithelia (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.</p>
<b>Summary and explanation</b>	<p>Epithelial membrane antigen (EMA) belongs to a heterogenous population of human milk fat globule (HMFG), proteins. HMFG is a complex secretory product of mammary epithelium and EMA can be recovered from the aqueous phase of skimmed milk following extraction in chloroform and methanol. Besides in milk, these proteins are present in a variety of epithelia of both normal and neoplastic types. EMA is present on the membrane of secretory epithelia. A number of monoclonal and polyclonal antisera have been raised against these molecules and anti-EMA has been extensively studied in a large number of neoplastic conditions in conjunction with other antibodies (2).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.</p>
<b>Reagent provided</b>	<p>Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>.</p> <p><u>Clone:</u> E29 (1). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa.</p> <p><u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.</p> <p>The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.</p>
<b>Immunogen</b>	Human milk fat globule membrane preparation (1, 3).
<b>Specificity</b>	In Western blotting of the immunogen the antibody labels bands of 265-400 kDa (1).
<b>Precautions</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. For in vitro diagnostic use.</li> <li>2. For professional users.</li> <li>3. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.</li> <li>4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.</li> <li>5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.</li> <li>6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.</li> </ol>
<b>Storage</b>	Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact our Technical Support.
<b>Specimen preparation</b>	<p><u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin, Bouin's fixative, B5 fixative or Zenker's solution (5). Pre-treatment of deparaffinized tissues with proteinase K or heat-induced epitope retrieval is recommended. For heat-induced epitope retrieval of tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.</p> <p><u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labeling acetone-fixed frozen sections (1). The user must validate the staining procedure.</p>
<b>Staining procedure</b>	<p>These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.</p> <p><u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, Code M0613, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval solution, Code S1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG2a, Code X0943, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.</p> <p><u>Quality control:</u> Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens..</p> <p><u>Visualization:</u> Dako EnVision+/HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.</p>
<b>Product-specific limitations</b>	The antibody labels plasma cells, and EMA appears to be common in plasma cell neoplasms, but is also encountered occasionally among other types of lymphoma. However, it should be emphasized that such cases usually are clearly identifiable on purely morphological grounds as being of lymphoid origin (1).
<b>Staining interpretation</b>	In normal breast and other secretory epithelia, labeling is predominantly localized to apical luminal membranes. In neoplasms, cytoplasmic and apical luminal membrane staining are the most common patterns of immunoreactivity with peripheral membrane staining or other patterns also occurring (4).

**Performance characteristics** Normal tissues: The antibody labels epithelial cells in a wide variety of tissues and mesothelial cells. Included are sweat ducts and sebaceous glands of the skin, epithelium of the gastrointestinal tract, acini and ducts of the breast, exocrine cells in pancreas, bladder epithelium, distal tubules of the kidney, cervix, endometrium, respiratory epithelium, thyroid and bile ducts. No labeling was observed in epidermis, endocrine cells in pancreas, glomeruli and proximal tubules of the kidney, central nervous system, peripheral nervous system, connective tissue, hepatocytes, and lymphoid tissue, except for occasional plasma cells (1).

Abnormal tissues: The antibody labels a wide variety of neoplastic epithelia, and also neoplastic mesothelial cells (1). In a large study of 2081 epithelial, mesenchymal and hematopoietic neoplasms, the antibody provided a 98.6% specificity (2). It was shown that the antibody labeled 105/354 cases of soft tissue and intracranial tumors, with most labeled cases among synovial sarcomas, spindle cell malignant mesotheliomas, epithelioid sarcomas, chordomas and choroid plexus tumors, 38/169 cases of small round cell tumors and small cell sarcomas, 13/158 cases of germ cell neoplasms, 23/23 cases of spindle cell "sarcomatoid" carcinomas, 815/918 cases of other epithelial malignancies, including squamous, Merkel cell, breast, gastric adeno-, colonic adeno-, pancreatic, salivary gland, bladder, uterine, ovarian, vaginal, pulmonary, prostatic, thyroid, thymic, hepatic, renal cell, and nasopharyngeal carcinomas (2). In lymphomas, the antibody labeled 10/22 cases of null or T-cell type CD30+ ALCL of small cell, monomorphic, or pleomorphic subtypes (5), 34/35 cases of p80/ALK+, 1/6 cases of CD56/57+ T/NK-cell, 2/7 cases of EBV+ cytotoxic large T-cell, 2/8 cases of low-grade cytotoxic T-cell and 6/10 cases of cytotoxic Hodgkin's-like lymphomas (6). No labeling was observed in 18/18 cases of basal cell carcinoma, 12/12 cases of hepatocellular carcinoma, 43/43 cases of malignant melanoma and 69/69 cases of endocrine neoplasms, with the exception of poorly differentiated lesions in 6 cases of islet cell tumors (2).

## FRANÇAIS

<b>Utilisation prévue</b>	Pour utilisation diagnostique in vitro. L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, Clone E29 est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps marque les cellules épithéliales dans un grand nombre de tissus et facilite la classification des épithéliums néoplasiques (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.
<b>Résumé et explication</b>	L'antigène de la membrane épithéliale (EMA) appartient à une population hétérogène de protéines de globules gras de lait humain (HMFG). Les HMFG sont un produit sécrétoire complexe de l'épithélium mammaire et l'EMA est présent dans le lait écrémé en phase aqueuse après extraction dans du chloroforme et du méthanol. Outre le lait, ces protéines sont également présentes dans un grand nombre d'épithéliums à la fois de types normaux et néoplasiques. L'EMA est présent sur la membrane des épithéliums sécrétoires. Plusieurs anti-sérums monoclonaux et polyclonaux ont été testés sur ces molécules et les anticorps dirigés contre l'EMA ont été largement étudiés dans un grand nombre de conditions néoplasiques, le plus souvent en association avec d'autres anticorps (2). Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.
<b>Réactifs fournis</b>	Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris/HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ). <u>Clone :</u> E29 (1). <u>Isotype :</u> IgG2a, kappa. <u>Concentration en IgG de souris :</u> Voir l'étiquette sur le flacon. La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.
<b>Immunogène</b>	Préparation de membrane de globules gras de lait humain (1, 3).
<b>Spécificité</b>	Dans les analyses par Western blot de l'immunogène, l'anticorps marque des bandes de 265 à 400 kDa (1).
<b>Précautions d'emploi</b>	1. Pour utilisation diagnostique in vitro. 2. Pour utilisateurs professionnels. 3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
<b>Conservation</b>	Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire, et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique Dako.
<b>Préparation des échantillons</b>	<u>Coupes en paraffine :</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol, au fixateur de Bouin, au fixateur B5 ou à la solution de Zenker (5). Le prétraitement des tissus déparaffinés par la protéinase K ou avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est recommandé. Dans le cadre de la restauration d'épitope induite par la chaleur de tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus à l'aide de la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, dans un tampon citrate à 10 mmol/L, à pH 6,0 ou dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. <u>Coupes congelées et préparations cellulaires :</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées fixées à l'acétone (1). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.
<b>Procédure de coloration</b>	Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées. <u>Dilution :</u> L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, réf. M0613, peut être utilisé à une gamme de dilution allant de 1:50 à 1:100 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG2a, réf. X0943, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

**Contrôle de qualité :** Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

**Visualisation :** Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

**Limitations spécifiques du produit**

L'anticorps marque les cellules plasmatiques et l'EMA semble fréquemment exprimé dans les cas de néoplasie cellulaire plasmatisque, mais il est aussi exprimé occasionnellement dans d'autres types de lymphomes. Cependant, il convient de souligner que ces cas sont généralement clairement identifiables comme étant d'origine lymphoïde sur la base de critères purement morphologiques (1).

**Interprétation de la coloration**

Dans les tissus mammaires sains et d'autres épithéliums sécrétoires, le marquage est surtout situé au niveau des membranes lumineales apicales. Dans les néoplasmes, la coloration des membranes lumineales apicales et cytoplasmiques constitue le principal schéma d'immunoréactivité. Une coloration des membranes périphériques ou d'autres schémas peuvent également se produire (4).

**Performances**

**Tissus sains :** L'anticorps marque les cellules épithéliales d'un grand nombre de tissus et de cellules mésothéliales. Figurent notamment : les canaux sudoripares et les glandes sébacées de la peau, l'épithélium de l'appareil digestif, les acini et canaux mammaires, les cellules exocrines du pancréas, l'épithélium de la vessie, les tubules distaux du rein, le col de l'utérus, l'endomètre, l'épithélium respiratoire, la thyroïde et les canaux biliaires. Aucun marquage n'a été observé au niveau de l'épiderme, des cellules endocrines du pancréas, des glomérules et des tubules proximaux du rein, du système nerveux central, du système nerveux périphérique, du tissu conjonctif, des hépatocytes et du tissu lymphoïde, à l'exception de quelques cellules plasmatiques (1).

**Tissus anormaux :** L'anticorps marque un grand nombre d'épithéliums néoplasiques et de cellules mésothéliales néoplasiques (1). Dans une étude à grande échelle menée sur 2 081 néoplasmes hématopoïétiques, mésoenchymateux et épithéliaux, l'anticorps a fourni une spécificité de 98,6% (2). Il a été démontré que l'anticorps a marqué 105 cas de tumeurs des tissus mous et intracrâniennes sur 354, la plupart des cas marqués étant des sarcomes synoviaux, des mésothéliomes malins à cellules fusiformes, des sarcomes épithélioïdes, des chordomes et des tumeurs du plexus choroïde ; 38 cas de tumeurs à petites cellules rondes et de sarcomes à petites cellules sur 169 ; 13 cas de néoplasmes à cellules germinales sur 158 ; 23 cas de carcinomes sarcomatoïdes à cellules fusiformes sur 23 ; 815 cas d'autres tumeurs épithéliales sur 918, y compris des carcinomes à cellules squameuses et à cellules de Merkel, des carcinomes du sein, des adénocarcinomes gastriques et du côlon, des carcinomes du pancréas, des glandes salivaires, de la vessie, de l'utérus, des ovaires, du vagin, des poumons, de la prostate, de la thyroïde, thymiques, du foie, à cellules rénales et nasopharyngées (2). Dans les lymphomes, l'anticorps a marqué 10 cas sur 22 de LAGC à cellules T ou nulles CD30+ de sous-types pléomorphes, monomorphes ou à petites cellules (5) ; 34 cas sur 35 p80/ALK+ ; 1 cas sur 6 à cellules T/NK CD56/57+, 2 cas sur 7 à grandes cellules T cytotoxiques EBV+, 2 cas sur 8 à cellules T cytotoxiques de faible intensité et 6 cas sur 10 de lymphomes cytotoxiques de type hodgkinien (6). Aucun marquage n'a été observé dans 18 cas sur 18 de carcinomes basocellulaires, 12 cas sur 12 de carcinomes hépatocellulaires, 43 cas sur 43 de mélanomes malins et 69 cas sur 69 de néoplasmes endocriniens, à l'exception des lésions peu différenciées dans 6 cas de tumeurs des îlots pancréatiques (2).

**DEUTSCH**

**Verwendungszweck**

Zur In-vitro-Diagnostik.  
Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, Clone E29 ist für die Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper markiert Epithelzellen unterschiedlichster Gewebe und unterstützt die Klassifizierung neoplastischer Epithelien (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

**Zusammenfassung und Erklärung**

Das Epithelmembran-Antigen (EMA) gehört einer heterogenen Population menschlicher Milchfettglobuline (HMFG, human milk fat globule proteins) an. HMFG ist ein komplexes Sekretionsprodukt des menschlichen Milchdrüsenepithels. EMA kann aus der wässrigen Phase der Magermilch nach Extraktion mit Chloroform und Methanol rückgewonnen werden. Außer in der Milch sind diese Proteine in diversen Epithelzellen sowohl in gesunden als auch in neoplastischen Geweben vorhanden. EMA ist auf der Membran sekretorischen Epithelgewebes vorhanden. Verschiedene monoklonale und polyklonale Antiseren wurden gegen diese Moleküle entwickelt, und Anti-EMA wurde ausgiebig bei einer großen Anzahl neoplastischer Erkrankungen untersucht, in Kombination mit anderen Antikörpern (2).  
Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

**Geliefertes Reagenz**

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na<sub>2</sub>S dialysierter Zellkulturüberstand.  
**Klon:** E29 (1). **Isotyp:** IgG2a, Kappa.  
**Konzentration von Maus-IgG:** Siehe Behälteretikett.  
Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

**Immunogen**

HMFG-Membranpräparat (1, 3).

**Spezifität**

Beim Western Blotting des Immunogens markiert der Antikörper Banden zwischen 265 und 400 kDa (1).

**Vorsichtsmaßnahmen**

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

**Lagerung**

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst zu verständigen.

**Gewebevorbereitung**

**Paraffinschnitte:** Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin, Bouin-Lösung, B5 oder Zenker'scher Lösung fixierten Gewebeschnitten verwendet werden (5). Die Vorbehandlung entparaffinierter Gewebe durch Proteinase K oder hitzeinduzierte Epitopdemaskierung wird empfohlen. Bei hitzeinduzierter Epitopdemaskierung formalinfixierter Gewebe werden optimale

Resultate mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6.0 oder 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 erzielt. Während der Gewebepreparierung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

**Gefrierschnitte und Zellpräparate:** Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten (1). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

**Färbeverfahren**

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

**Verdünnung:** Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, Code-Nr. M0613 kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:50 und 1:100 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG2a, Code-Nr. X0943 empfohlen, das auf dieselbe Konzentration von Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

**Qualitätskontrolle:** Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

**Detektionssystem:** Dako EnVision+/HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

**Produktspezifische Beschränkungen**

Der Antikörper markiert Plasmazellen und EMA scheint häufig in Plasmazellneoplasmen aufzutreten, wird jedoch auch gelegentlich bei anderen Lymphomtypen festgestellt. Es sollte jedoch betont werden, dass solche Fälle in der Regel schon rein morphologisch eindeutig als Fälle lymphoiden Ursprungs identifiziert werden können (1).

**Auswertung der Färbung**

In normalem Brust- und anderen sekretorischen Epithelen findet sich die Markierung hauptsächlich in apikalen luminalen Membranen. Bei Neoplasmen sind die zytoplasmatische Färbung und die Färbung der apikalen luminalen Membran das häufigste Immunreaktivitätsmuster, wobei auch Färbungen der peripheren Membran oder andere Färbemuster auftreten (4).

**Leistungseigenschaften**









**Normalgewebe:** Der Antikörper markiert Epithelzellen in einer Vielzahl unterschiedlicher Gewebe und Mesothelzellen. Hierzu zählen: Schweißdrüsengänge und Talgdrüsen der Haut, Epithel des Gastrointestinaltrakts, Acini und Gänge der Brust, exokrine Pankreaszellen, Blasenepithel, distale Nierentubuli, Zervix, Endometrium, Epithel der Atemwege, Schilddrüse und Gallengänge. Bei folgenden Geweben konnte keine Markierung festgestellt werden: Epidermis, endokrine Pankreaszellen, Glomeruli und proximale Nierentubuli, zentrales und peripheres Nervensystem, Bindegewebe, Hepatozyten sowie lymphoides Gewebe mit Ausnahme gelegentlicher Plasmazellen (1).

**Anormale Gewebe:** Der Antikörper markiert unterschiedlichste neoplastische Epithelien und auch neoplastische Mesothelzellen (1). In einer umfangreichen Studie an 2081 epithelialen, mesenchymalen und hämatopoetischen Neoplasmen zeigte der Antikörper eine Spezifität von 98.6% (2). Es wurde nachgewiesen, dass der Antikörper 105 von 354 Weichteil- und intrakraniellen Tumoren markierte, wobei die meisten markierten Fälle bei Synovialsarkomen, malignen Mesotheliomen vom Spindelzelltyp, Epithelioidsarkomen, Chordomen und Plexus-choroideus-Tumoren vorlagen, außerdem 38 von 169 kleinrundzelligen Tumoren und kleinzelligen Sarkomen, 13 von 158 Keimzellenneoplasmen, 23 von 23 „sarkomatoide“ Spindelzell-Karzinomen sowie 815 von 918 anderen epithelialen Tumoren wie Plattenepithel-, Merkel-Zell-, Brust-, Magen-Adeno-, Darm-Adeno-, Pankreas-, Speicheldrüsen-, Blasen-, Gebärmutter-, Ovarial-, Vaginal-, Pulmonal-, Prostata-, Schilddrüsen-, Thymus-, Leber-, Nierenzell- und nasopharyngealen Karzinomen (2). Bei Lymphomen markierte der Antikörper 10 von 22 Fällen vom Null- oder T-Zell-Typ CD30+ ALCL der kleinzelligen, monomorphen oder pleomorphen Untertypen (5), 34 von 35 Fällen von p80/ALK+, 1 von 6 Fällen vom CD56/57+ T/NK-Zell-Typ, 2 von 7 Fällen vom EBV+ zytotoxischen großzelligen T-Zell-Typ, 2 von 8 Fällen vom niedriggradigen zytotoxischen T-Zell-Typ sowie 6 von 10 zytotoxischen Hodgkin-artigen Lymphome (6). In 18 von 18 Basalzellenkarzinomen, 12 von 12 Leberzellkarzinomen, 43 von 43 malignen Melanomen und 69 von 69 endokrinen Neoplasmen konnte keine Markierung beobachtet werden, mit Ausnahme von wenig differenzierten Läsionen in 6 Inselelltumoren (2).

**References/ Références/ Literatur**

1. Cordell J, Richardson TC, Pulford KAF, Ghosh AK, Gatter KC, Heyderman E, et al. Production of monoclonal antibodies against human epithelial membrane antigen for use in diagnostic immunocytochemistry. Br J Cancer 1985;52:347-54.
2. Swanson PE. Monoclonal antibodies to human milk fat globule proteins. In: Wick MR, Siegal GP, editors. Monoclonal antibodies in diagnostic immunohistochemistry. New York – Basel: Marcell Dekker Inc; 1988. p. 227-83.
3. Heyderman E, Strudley I, Powell G, Richardson TC, Cordell JL, Mason DY. A new monoclonal antibody to epithelial membrane antigen (EMA) – E29. A comparison of its immunocytochemical reactivity with polyclonal anti-EMA antibodies and with another monoclonal antibody, HMF2-2. Br J Cancer 1985;52:355-61.
4. Pinkus GS, Kurtin PJ. Epithelial membrane antigen – a diagnostic discriminant in surgical pathology. Immunohistochemical profile in epithelial, mesenchymal, and hematopoietic neoplasms using paraffin sections and monoclonal antibodies. Hum Pathol 1985;16:929-40.
5. Felgar RE, Salhany KE, Macon WR, Pietra GG, Kinney MC. The expression of TIA-1+ cytolytic-type granules and other cytolytic lymphocyte-associated markers in CD30+ anaplastic large cell lymphomas (ALCL): correlation with morphology, immunophenotype, ultrastructure, and clinical features. Hum Pathol 1999;30:228-36.
6. Kagami Y, Suzuki R, Taji H, Yatabe Y, Takeuchi T, Maeda S, et al. Nodal cytotoxic lymphoma spectrum. A clinicopathologic study of 66 patients. Am J Surg Pathol 1999;23:1184-1200.

**Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole**

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
 I	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.  
No. 1 Yishun Avenue 7  
Singapore, 768923  
Tel. +44 161 492 7050  
www.agilent.com